

La aspirina y taurina son pro-oxidantes en cerebro de ratas adultas

David Calderón-Guzmán¹, Ernestina Hernández-García², Gerardo Barragán-Mejía¹, Daniel Santamaría del Ángel¹, E. Arturo Juárez-Jacobo¹, María de Lourdes Segura-Abarca¹

RESUMEN

La aspirina (ASA) es el anti-inflamatorio no esterooidal mas ampliamente distribuido y con más frecuencia usado para combatir el dolor. En la actualidad se le atribuyen alteraciones del balance oxidante y antioxidante, aumentando el efecto analgésico si está se combina con sustancias antioxidantes exógenas. *Objetivos:* medir parámetros indicadores de estrés oxidante en cerebro de ratas adultas con dosis única de ASA y taurina. *Material y métodos:* se utilizaron ratas adultas macho con los siguientes tratamientos en una sola dosis: *grupo I* control, NaCl 0.9%; *grupo II*, ASA; *grupo III*, taurina; *grupo IV*, ASA+taurina. El ASA (20 mg/kg) y taurina (100 mg/kg) se administraron por vía i.p. A las dos horas de la administración, fueron sacrificadas y se midieron en homogenado de cerebro los niveles de peroxidación de lípidos (Tbars), glutatión (GSH), ácido 5-hidroxi-ildol acético (5-HIAA), y la actividad de Na⁺, K⁺ ATPasa, mediante métodos de espectrofotometría y fluorescencia. *Resultados:* los niveles de Tbars se incrementaron significativamente en todos los grupos experimentales (p<0.05), la concentración de 5-HIAA y GSH disminuyeron significativamente en todos los grupos experimentales (p<0.05), la actividad de Na⁺, K⁺ ATPasa y ATPasa total disminuyeron sólo en el grupo que recibió taurina (p<0.05), todos con respecto al grupo control. *Conclusión:* en base a los resultados se sugiere que el consumo de ASA y taurina alteran el metabolismo serotoninérgico e inducen estrés oxidante en cerebro.

Palabras clave: aspirina, taurina, aminos biogénicas, cerebro.

La aspirina (ASA) es el fármaco anti-inflamatorio no esteroide, mas ampliamente distribuido con más frecuencia usado para el dolor¹. ASA es con rapidez hidrolizado a salicilatos, formados *in vivo* por acción del radical hidroxilo (OH.)¹. Es probable que la mayor contribución de los salicilatos sea su capacidad para atrapar radicales libres y ofrecer neuroprotección².

Los radicales libres son especies reactivas que poseen un electrón desapareado, y el cerebro no esta exento de su efecto al provocarle estrés oxidante excesivo; el cual, se ve reflejado con aumento del riesgo de desordenes neuronales³. Los radicales libres inducen estrés oxidante que se caracteriza por el daño a los componentes celulares, y material genético⁴. Los lípidos de la membrana celular son las principales biomoléculas blanco de los radicales libres⁵, y el SN es en particular susceptible a este daño oxidativo, el cual depende de la presencia de antioxidantes, en especial durante el desarrollo, cuando el metabolismo del cerebro y el crecimiento están al máximo nivel⁶. Los lípidos que componen la membrana son principalmente fosfolípidos y estos interactúan ampliamente con proteínas estructurales de la bicapa lipídica⁷, de las cuales la enzima Na⁺, K⁺ ATPasa es una proteína integral de membrana, responsable del intercambio iónico a través de la misma, mediante la estimulación de Na⁺ y K⁺⁸. La inhibición de la enzima Na⁺, K⁺ ATPasa induce la liberación de aminoácidos excitadores en el SNC⁹, entre los que se encuentran indolaminas como serotonina (5-HT), y su metabolito el ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA).

Estudios recientes de analgésicos y antioxidantes, indican que está combinación está siendo utilizada para disminuir la dosis de analgésicos y prevenir el impacto negativo de las especies reactivas del oxígeno sobre las células¹⁰, mediante mecanismos aun desconocidos. Entre los compuestos antioxidantes se encuentra la taurina, que se caracteriza por poseer características estructurales, capaces de neutralizar los radicales libres o de activar enzimas antioxidantes y otras biomoléculas como el glutatión (GSH), importante indicador bioquímico del efecto antioxidante¹¹.

La taurina, ácido 2-amino etano sulfónico, es uno de los mas abundantes aminoácidos en plasma y citosol, la cual ha sido incluida en varias funciones fisiológicas importantes tales como mantenimiento de la integridad estructural de la membrana, neuromodulación y neurotransmisión entre otras¹². Este producto se distribuye ampliamente en la industria alimenticia nacional e internacional como suplemento para beber (Red Bull).

Basándose en lo anterior, el presente estudio propone evaluar el efecto antioxidante de aspirina y taurina en cerebro de ratas adultas, mediante medición de los niveles de Tbars, GSH, 5-HIAA y la actividad de Na⁺, K⁺ ATPasa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 28 ratas Wistar machos de 90 días de edad (400 g), divididos en grupos de 7 animales cada uno (tabla 1). Los animales fueron alimentados con purina para roedores (*laboratory rodent diet 5001*), y agua *ad libitum*, con los siguientes tratamientos: *grupo I* control, NaCl 0.9%; *grupo II*, ASA 20 mg/kg; *grupo III*, taurina 100 mg/kg; *grupo IV*, ASA + taurina, 20 mg y 100 mg, respectivamente. Los grupos de animales recibieron una dosis única de su tratamiento respectivo por vía i.p. y 120 min después los animales fueron sacrificados por decapitación, previa inducción de anestesia con éter etílico después el cerebro fue colocado en NaCl 0.9% a 4 °C, la disección del cerebro se realizó en corte sagital, el corte izquierdo para ser homogeneizado en 5 volúmenes de TRIS-HCl 0.05M, pH 7.2, para el ensayo de peroxidación de lípidos (Tbars), y la actividad de Na⁺, K⁺ ATPasa y el corte derecho en 5 volúmenes de ácido perclórico (HClO₄) 0.1M, para la determinación de GSH y 5-HIAA. Las muestras fueron mantenidas a -20 °C hasta su análisis. Durante el estudio los animales fueron mantenidos en cajas cerradas y con fotoperiodo de 12/12 hs luz/oscuridad. El procedimiento experimental cumplió con autorización del Comité para el Uso y Cuidado de Animales de Bioterio del Instituto.

Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
Control (7) (NaCl 0.9%)	ASA (20 mg/kg) (7)	Taurina (100 mg/kg) (7)	Taurina (100 mg/kg) + ASA (20 mg/kg) (7)

(7) animales para cada grupo.

Diseño experimental

Técnica para medición de peroxidación de lípidos (TBARS)

La determinación de TBARS se llevó mediante técnica modificada de Gutteridge, *et al*⁵, como se describe a continuación: Se homogeneizó cada tejido en 5 ml de buffer de fosfatos pH 7.4, del cual se tomó 1 ml y se le agregó 2 ml de ácido tiobarbitúrico (TBA), conteniendo: 1.25 g de TBA, 40 g de ácido tricloroacético (TCA), y 6.25 ml de ácido clorhídrico concentrado (HCl), diluidos en 250 ml de H₂O desionizada, y se calentó a temperatura de ebullición por

Recibido: 2 septiembre 2010. Aceptado: 20 septiembre 2010.

¹Laboratorio Neuroquímica. Instituto Nacional de Pediatría (INP). Secretaría de Salud (SSA). México. ²Laboratorio Farmacología. INP-SSA. México. Correspondencia: David Calderón Guzmán. Laboratorio de Neuroquímica, Instituto Nacional de Pediatría, Avenida Imán # 1, 3^{er} piso, Col. Insurgentes Cuicuilco, C.P. 04530, Mexico D.F., México. E mail: solodavid2001@yahoo.com.mx

30 min (Thermomix 1420). Después se colocó las muestras en baño de hielo durante 5 min y se centrifugó a 3,000 g durante 15 min, (Sorvall RC-5B Dupont). Las absorbancias del sobrenadante fueron leídas por triplicado a 532 nm en espectrofotómetro (Helios- α de UNICAM). La concentración de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) fueron expresadas en μM de malondialdehído/g de tejido húmedo.

Técnica para medir ácido 5-hidroxi-indol acético (5-HIAA)

La concentración de 5-HIAA se midió a partir del sobrenadante de tejido homogeneizado en HClO_4 , obtenido después de centrifugar a 5000 rpm durante 5 min (microcentrífuga Mikro 12-42, Germany), de acuerdo a una modificación de la técnica reportada por Beck, et al¹³. En un tubo de ensayo se colocaron 1.9 ml de *buffer* de acetatos 0.01M pH 5.5 y una alícuota de sobrenadante de HClO_4 , toda la mezcla se incubó durante 5 min a temperatura ambiente en oscuridad total, al término de incubación las muestras fueron leídas en un espectrofluorómetro PERKIN ELMER LS 55, con longitudes de excitación 296 nm y emisión 333 nm. Se utilizó un *Software FL Win Lab* versión 4.00.02. Los valores fueron inferidos en una curva estándar previamente estandarizada, y fueron reportados como nM/g de tejido húmedo.

Técnica para medición de glutatión (GSH)

Los niveles de GSH se midieron a partir del sobrenadante de tejido homogeneizado en HClO_4 , obtenido después de centrifugar a 5000 rpm durante 5 min (microcentrífuga Mikro 12-42, Germany), de acuerdo a una modificación de la técnica reportada Hissin y Hilf¹⁴. En un tubo de ensayo fueron colocados 1.8ml de *buffer* de fosfatos pH 8.0 con EDTA 0.2%, una alícuota de sobrenadante de HClO_4 , y 100 μl de ortoftaldialdehído (OPT) en concentración de 1 mg/ml en metanol, toda la mezcla fue incubada durante 15 min a temperatura ambiente en oscuridad total, al término de la incubación las muestras fueron leídas en un espectrofluorómetro PERKIN ELMER LS 55, con longitudes de excitación 350 nm y emisión 420 nm. Se utilizó un *Software FL Win Lab* versión 4.00.02. Los valores fueron inferidos en una curva estándar previamente estandarizada, y reportados como nM/g de tejido húmedo.

Técnica para medir la actividad de Na^+ , K^+ ATPasa y ATPasa total

La técnica se realizó utilizando el método propuesto por Calderón, et al¹⁵, aproximadamente 1 mg de tejido del homogenado de cerebro en tris-HCl 0.05M pH 7.4, las cua-

les fueron incubadas durante 15 min en un medio conteniendo lo siguiente: 3 mM MgCl_2 , 7 mM KCl, 100 mM NaCl, con o sin ouabaína 0.06 mM. Después de este tiempo se añadió 4 mM de tris-ATP y fue incubado por 30 min a 37°C con agitación en un baño Dubnoff Labconco. La reacción fue detenida con 100 μl de ácido tricloroacético al 5%. Las muestras fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 5 min a 4 °C, y una alícuota del sobrenadante fue utilizada para medir el fósforo inorgánico (P_i) mediante el método propuesto por Fiske Subarrow¹⁶. La absorbancia se midió del sobrenadante a 660nm usando un espectrofotómetro Helios- α de UNICAM, y la diferencia de esta absorbancia entre las soluciones con y sin ouabaína fue considerada como la actividad de Na^+/K^+ ATPasa y expresada en $\mu\text{M Pi/g}$ tejido húmedo/min, mientras que la ATPasa total fue obtenida en ausencia de ouabaína.

Estadística

Se llevó a cabo el análisis de varianza (ANOVA), previa comprobación de homogeneidad de varianzas. Los valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos¹⁷. Se utilizó el *Statistical Discovery Software (for academic use only) JMP IN 6.0.0*¹⁸.

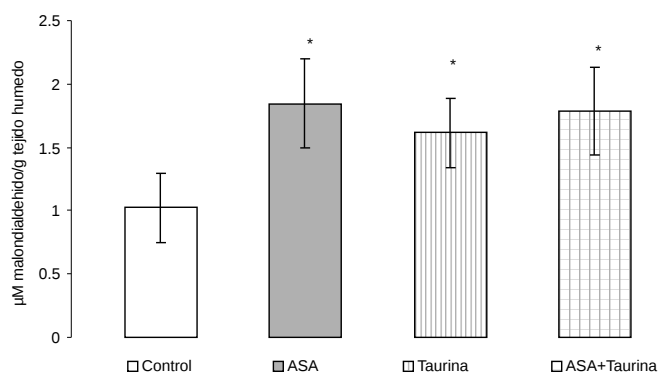


Figura 1. Niveles de peroxidación de lípidos en cerebro de ratas adultas con tratamiento de ASA y taurina. Valores promedio $\pm$ D.E. ANOVA * $p = 0.0001$. Control, NaCl 0.9%; ASA, 20mg/kg; taurina, 100 mg/kg; ASA + taurina 20mg/kg + 100mg/Kg.

RESULTADOS

Se presenta los niveles de peroxidación de lípidos en cerebro de ratas adultas con tratamiento de aspirina y taurina en la figura 1. Todos los grupos experimentales mostraron incrementos importantes respecto al grupo control, encontrando diferencias significativas ANOVA ($p = 0.0001$).

En los niveles de GSH en cerebro de ratas adultas con tratamiento de ASA y taurina (figura 2), se observó disminución significativa de todos los grupos de animales que recibieron ASA o taurina sola o combinada, respecto a su grupo control ANOVA ($p = 0.0001$).

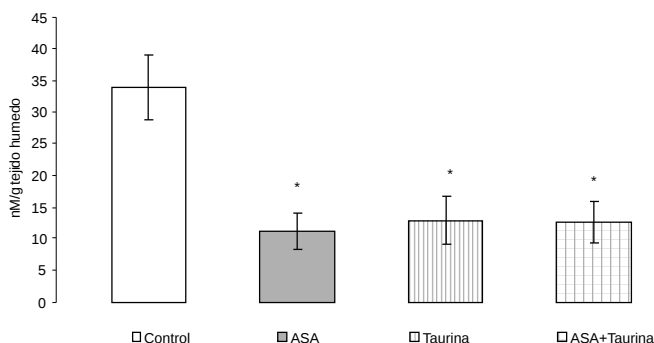


Figura 2. Niveles de 5-HIAA en cerebro de ratas adultas con tratamiento de ASA y taurina. Valores promedio $\pm$ D.E. ANOVA $*p = 0.0001$. Control, NaCl 0.9%; ASA, 20 mg/kg; taurina, 100 mg/kg; ASA + taurina 20 mg/kg + 100 mg/Kg.

La figura 3. Muestra los niveles de 5-HIAA en cerebro de ratas adultas con tratamiento de ASA y taurina. Todos los grupos experimentales presentaron disminución significativa (ANOVA $p = 0.0001$), de la concentración de 5-HIAA, comparados con el grupo control.

En la actividad de Na^+ , K^+ ATPasa en cerebro de ratas adultas con tratamiento de ASA y taurina (figura 4), los grupos de animales que recibieron ASA o taurina presentaron menor actividad enzimática que el grupo control, y únicamente el grupo de taurina presentó diferencias significativas, ANOVA ($p < 0.05$). El grupo de animales con la combinación de ASA y taurina no presentó diferencia alguna respecto al grupo control, y esto se debió evidentemente a la presencia de ASA.

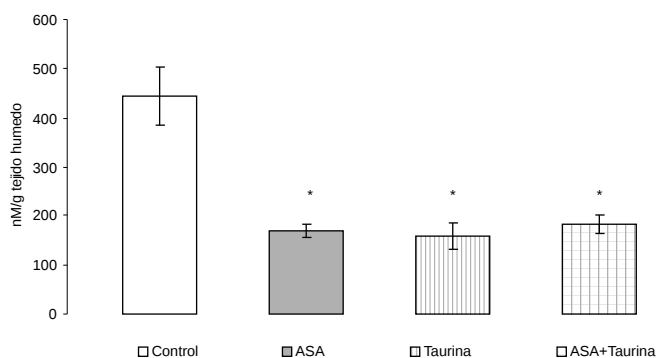


Figura 3. Niveles de GSH en cerebro de ratas adultas con tratamiento de ASA y taurina. Valores promedio $\pm$ D.E. ANOVA $*p = 0.0001$. Control, NaCl 0.9%; ASA, 20 mg/kg; taurina, 100 mg/kg; ASA + taurina 20 mg/kg + 100 mg/Kg.

La figura 4. Muestra la actividad de ATPasa total en cerebro de ratas adultas con tratamiento de ASA y taurina. Se puede observar comportamiento semejante al de Na^+ , K^+ ATPasa, pero en este caso sin diferencias importantes entre el control y los grupos de ASA o ASA + taurina, la única diferencia significativa (ANOVA $p < 0.05$), se presentó entre el grupo de ASA y el grupo control.

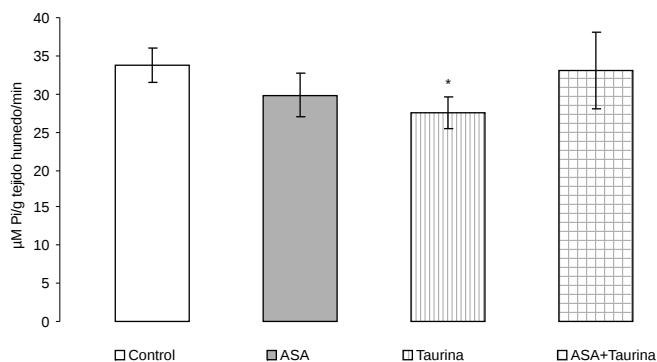


Figura 4. Actividad de Na^+ , K^+ ATPasa en cerebro de ratas adultas con tratamiento de ASA y taurina. Valores promedio $\pm$ D.E. ANOVA $*p < 0.05$. Control, NaCl 0.9%; ASA, 20 mg/kg; taurina, 100 mg/kg; ASA + Taurine 20 mg/kg + 100 mg/Kg.

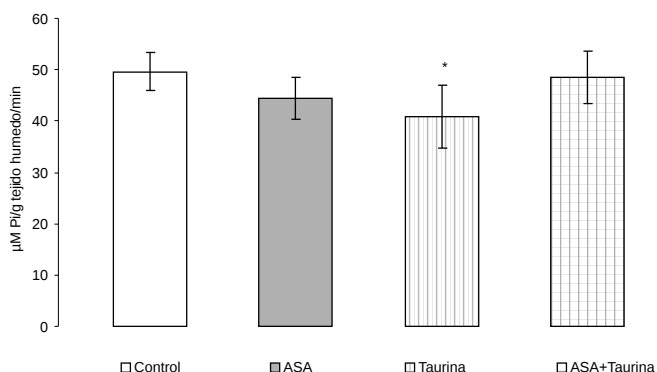


Figura 5. Actividad de ATPasa total en cerebro de ratas adultas con tratamiento de ASA y Taurina. Valores promedio $\pm$ D.E. ANOVA $*p < 0.05$. Control, NaCl 0.9%; ASA, 20mg/kg; Taurina, 100mg/kg; ASA + Taurine 20mg/kg + 100mg/Kg.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Es importante mencionar que todos los animales adultos que recibieron taurina en el presente estudio, reaccionaron de inmediato y este sangrado proveniente de las uñas de las patas, y en el 30 % de estos animales aparecieron coágulos en la zona de los párpados de los ojos, y presentaron taquicardia. Estos efectos pueden ser explicados porque la taurina está relacionada con las funciones vitales del control cardiovascular y en la presión sanguínea arterial¹⁸, además de potenciar el efecto de antiagregante plaquetario de la aspirina¹⁹, por tal motivo; los sujetos en

edad adulta deben de restringir el consumo de aspirina combinado con taurina, en bebidas que proporcionan esta sustancia en altas concentraciones.

Los niveles de peroxidación de lípidos se incrementaron significativamente en los grupos de animales que recibieron taurina y los que recibieron el ASA, quizás como consecuencia de la gran cantidad de grupos hidroxilo (OH) presentes²⁰, los cuales representan a los radicales libres más reactivos²¹, o bien, por la participación de taurina en el metabolismo del colesterol²².

Los niveles de GSH disminuyeron en los grupos de animales con presencia de ASA y/o taurina, éstos resultados coinciden con los reportados Clark, *et al*²³, quienes sugieren que la disminución de GSH es debida principalmente a la pérdida de sodio intracelular, ya que el cambio en la osmolaridad provoca que la células sean mas susceptibles al daño oxidativo, dado que la taurina actúa como un osmolito e induce cambios en cerebro exclusivamente.

El ASA y taurina disminuyeron drásticamente la concentración de este importante indicador de estrés oxidante, este comportamiento sugiere que el cerebro se encuentra expuesto a los metabolitos de estos compuestos^{24,25}, y a los radicales libres endógenos, como el óxido nítrico (NO), el cual es sintetizado en poblaciones de neuronas²⁶, además de participar ampliamente en el metabolismo del GSH. Este efecto es negativo, porque la disminución de los niveles de GSH en pacientes deja al sistema nervioso central vulnerable al daño por estrés oxidante²⁷.

La actividad de la enzima Na⁺, K⁺ ATPasa disminuyó por amplio margen en los animales que recibieron taurina, y más marcado por presencia de ASA, quizás por la alteración en el contenido de sodio intracelular²³. La disminución en la actividad de la enzima fue inducido en cerebro de ratas adultas por la administración de aspirina y taurina administradas por separado, tal vez por la inhibición de la enzima en cerebro inducida por la activación del estrés oxidante en cerebro²⁸, dado que esta enzima es un regulador del funcionamiento de la serotonina (5-HT)²⁹, la cual posee actividad antioxidante en el sistema nervioso central³⁰, y puede ser alterada por presencia de ASA³¹. De igual forma sucedió con la actividad de la enzima ATPasa total en los grupos de animales que recibieron ASA y taurina, sugiriendo que la inactivación de estas enzimas en cerebro es indicadora de que estas sustancias inhiben la calmodulina, cuya presencia puede alterar los niveles de Ca²⁺ ATPasa, como lo sugieren los estudios reportados por Davis, *et al*³², quienes indican que algunos antioxidantes interfiere con la unión de calmodulina a la membrana celular, reduciendo como consecuencia la actividad de Ca²⁺ ATPasa.

Por otra parte, los animales que recibieron el tratamiento combinado de ASA y taurina, no presentaron cambios en la actividad de la Na⁺, K⁺ ATPasa y ATPasa total, debido probablemente a que la interacción ASA-tau-

rina estimula la actividad de estas enzimas, afectando el sitio hidrofílico sobre los canales de la membrana y evitando alteración iónica, para normalizar la actividad de ATPasas³³. El aumento en la actividad de Na⁺, K⁺ ATPasa y ATPasa total y la disminución en los niveles de glutatión son probablemente a consecuencia de la interacción de ASA y taurina con los componentes de la membrana celular, los cuales pueden ser por la respuesta de mecanismos antioxidantes que incluyen enzimas antioxidantes, o la acción de estas sustancias sobre biomoléculas del SNC³⁴. Estos biomarcadores en cerebro pueden jugar un importante papel en desordenes del SNC.

La concentración de 5-HIAA disminuyó en grupos de animales con tratamiento de ASA y taurina, quizás la presencia del NO es responsable de este efecto, debido a que este radical libre puede participar en la regulación de la ingesta de alimento y al mismo tiempo, regular el sistema serotoninérgico central³⁵.

La edad es un factor determinante en la alteración del metabolismo serotoninérgico y el estrés oxidante en cerebro, principalmente porque los animales de mayor edad son más susceptibles al daño oxidante⁶. Los resultados del presente estudio sugieren cambios en la regulación celular y la respuesta bioquímica en cerebro, inducidos por la administración de ASA y taurina en respuesta al estrés oxidante provocado en conjunto con la edad.

REFERENCIAS

1. Grootveld M, Halliwell B. 2,3-Dihydroxybenzoic acid is a product of human aspirin metabolism. *Biochem Pharmacol* 1998; 37(2):271-80.
2. Guerrero A, González-Correa JA, Arrebola MM, Muñoz-Marín J, Sánchez de la Cuesta F, De la Cruz JP. Antioxidant effects of a single dose of acetylsalicylic acid and salicylic acid in rat brain slices subjected to oxygen-glucose deprivation in relation with its antiplatelet effect. *Neurosci Lett* 2004; 358(3):153-6.
3. Carney JM, Starke-Reed PE, Oliver CN, Landum RW, Cheng MS, Wu JF, Floyd RA. Reversal of age-related increase in brain protein oxidation, decrease in enzyme activity, and loss of temporal and spatial memory by chronic administration of the spin trapping compound N-tert-butyl- α -phenylnitrone. *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88:3633-6.
4. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxides. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:1624-9.
5. Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15:129-35.
6. Driver AS, Kodavanti PR, Mundy WR. Age-related changes in reactive oxygen species production in rat brain homogenates. *Neurotoxicology and Teratology* 2000; 22:175-81.
7. Swapna I, Sathya KV, Murthy CR, Senthilkumaran B. Membrane alterations and fluidity changes in cerebral cortex during ammonia intoxication. *Neuro Toxicology* 2005; 335:700-4.
8. Stefanello FM, Chiarani F, Kurek AG. Methionine alters Na⁺, K⁺ ATPase activity, lipid peroxidation and nonenzymatic antioxidant defenses in rat hippocampus. *Inter J Developmental Neuroscience*

- 2005; 23:651-6.
9. Kagedal B, Golstein DS. Catecholamines and their metabolites. *J Chromatogr* 1988; 429:177-233.
10. Rokyta R, Holecek V, Pekarkova I, Krejcova J, Racek J, Trefil L, Yamamoto A. Free Radical after painful stimulation are influenced by antioxidants and analgesics. *Neuro Endocrinol Lett* 2003; 24(5):304-9.
11. Wu F, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr* 2004; 134(3): 489-92.
12. Nandhini AT, Thirunavukkarasu V, Anuradha CV. Taurine modifies insulin signaling enzymes in the fructose-fed insulin resistant rats. *Diabetes Metab* 2005; 31:337-44.
13. Beck O, Palmskog G, Hultman E. Quantitative determination of 5-hydroxyindole-3-acetic acid in body fluids by HPLC. *Clin Chim Acta* 1977; 79: 149-54.
14. Hissin PJ, Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissue. *Anal Biochem* 1976; 214-26.
15. Calderón-Guzmán D, Espitia-Vázquez I, López-Domínguez A, Hernández-García E, Huerta-Gertrudis B, Coballase-Urrutia E, et al. Effect of toluene and nutritional status on serotonin, lipid peroxidation levels and Na⁺/K⁺-ATPase in adult rat brain. *Neurochem Res* 2005; 5:1-6.
16. Fiske CH, Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 1925; 66:375-400.
17. Castilla-Serna, L. Estadística simplificada para la investigación en Ciencias de la Salud. Editorial Trillas. 2° Edición. México, D.F. 1999.
18. Saransaari P, Oja SS. Characteristics of taurine release in slices from adult and developing mouse brain stem. *Amino Acids* 2006; 31(1):35-43.
19. Franconi F, Miceli M, Bennardini F, Mattana A, Covarrubias J, Seghieri G. Taurine potentiates the antiaggregatory action of aspirin and indomethacin. *Adv Exp Med Biol* 1992; 315:181-6.
20. O'Connell MJ, Webster NR. Hyperoxia and salicylate metabolism in rats. *J Pharm Pharmacol* 1990; 42:205-6.
21. Tubaro M, Caballo G, Pensa V, Chessa MA, Natale E, Ricci R, Milazzotto F, Tubaro E. Demonstration of the formation of hydroxyl radicals in acute myocardial infarction in man using salicylate as probe. *Cardiology* 1992; 80(3-4):246-51.
22. Murakami S, Nara Y, Yamori Y. Taurine accelerates the regression of hipercholesterolemia in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Life Sci* 1996; 58:1643-1651.
23. Clark EC, Thomas D, Baer J, Sterns RH. Depletion of glutathione from brain cells in hyponatremia. *Kyney Int* 1996; 49(2): 470-6.
24. Rylance HJ. Hypertaurinuria in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1969; 28:41-44.
25. Ota S, Razandi M, Sekhon S, Karause WJ, Terano A, Hiraishi H, et al. Salicylate effects on a monolayer culture of gastric mucous cells from adult rats. *Gut* 1988; 29(12):1705-14.
26. Jhamandas JH, Harris KH, Petrov T, Jhamandas KH. Activation of nitric oxide-synthesizing neurones during precipitated morphine withdrawal. *Neuroreport* 1996;7: 2843-6.
27. Goudas LC, Langlade A, Serrie A, Matson W, Milbury P, Thurel C, et al. Acute decreases in cerebrospinal fluid glutathione levels after intracerebroventricular morphine for cancer pain. *Anesth Analg* 1999; 89(5): 1209-15.
28. Chen JW, Zhang L, Lian X, Hwang F. Effect of hydroxyl radical on Na⁺-K⁺-ATPase activity of the brain microsomal membranes. *Cell Biol Int Rep* 1992; 16:927-36.
29. Hernández RJ. A serotonin agonist-antagonist reversible effect on Na⁺,K⁺ ATPase activity in the developing rat brain. *Dev Neurosci* 1982; 5:326-31.
30. Lehotssky J, Kaplan P, Racay P, Matejovicova M, Drgova A, Mezesova V. Membrane ion transport systems during oxidative stress in rodent brain: Protective effects of stobadine and other antioxidants. *Life Sci* 1999; 65:1951-8.
31. Sandrini M, Vitale G, Pini LA. Central antinociceptive activity of acetylsalicylic acid is modulated by brain serotonin receptor subtypes. *Pharmacology* 2002; 65(4):193-7.
32. Davis FB, Smith TJ, Deziel MR, Davies PJ, Blas SD. Retinoic acid inhibits calmodulin binding to human erythrocyte membranes and reduces membrane Ca²⁺(+)-adenosine triphosphatase activity. *J Clin Invest* 1990; 85(6):1999-2003.
33. Pushpakiran G, Mahalakshmi K, Viswanathan P, Anuradha CV. Taurine prevents ethanol-induced alterations in lipids and ATPases in rat tissues. *Pharmacol Rep* 2005;578-87.
34. Saransaari P, Oja SS. Taurine and neural cell damage. Transport of taurine in adult and developing mice. *Adv Exp Med Biol* 1996;403:481-90.
35. Wang HR, Li JS, Chen J, Zhang H. Effects of taurine and zinc on activity of NOS and expresión of nNOS in cerebral cortex of acute hypoxic mice. *Wei Sheng Yan Jiu* 2006; 35(1):97-9.